

La lesión por isquemia-reperfusión (I/R) hepática (IRI, del inglés *ischemia-reperfusion injury*) es una causa importante de mortalidad y morbilidad en la resección hepática y el trasplante de hígado. La IRI causa hasta un 10% de los fallos orgánicos precoces y predispone al rechazo crónico. Durante el periodo de hipoxia, el hígado permanece sin aporte de oxígeno, cambiando su metabolismo a vías anaerobias que disminuirán el pH intracelular además del arresto de la síntesis de ATP. Paradójicamente, el restablecimiento necesario del flujo de oxígeno causa más daño, con una activación del sistema inmunitario que generará una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*) que causarán daño celular y tisular, provocando la muerte celular y comprometiendo la viabilidad tisular. La ciclooxigenasa-2 (COX-2) es una enzima clave en la biosíntesis de prostaglandinas y su importancia en la IRI es controvertida. La PGE₂, prostaglandina E₂, es el principal producto de la COX-2, y participa principalmente en la mediación de procesos patológicos como la inflamación, la fiebre y el dolor. Mientras que el uso de AINEs, inhibidores específicos de la COX, apunta a un efecto beneficioso de su inhibición en la resolución del proceso inflamatorio, cada vez más estudios apoyan actualmente la idea de un papel antiinflamatorio de la COX-2. De hecho, estudios previos han demostrado que la sobreexpresión de COX-2 en hepatocitos protege a los ratones de la apoptosis y el estrés celular, además de reducir la respuesta inflamatoria en diferentes modelos de enfermedad hepática (como la enfermedad del hígado graso asociada a disfunción metabólica (MAFLD, del inglés *metabolic (dysfunction) associated fatty liver disease*), y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH, del inglés *non-alcoholic steatohepatitis*).

En esta tesis doctoral, se utilizó un ratón transgénico que sobreexpresa COX-2 específicamente en los hepatocitos (*h-COX-2 Tg*) para dilucidar el papel y la implicación de la COX-2 en la IRI. Los animales de tipo silvestre (*Wt*, del inglés *Wild type*) y *h-COX-2 Tg* fueron sometidos a 90 min de isquemia, seguidos de 4 o 24 h de reperfusión, y se usó la cirugía Sham (placebo) como control en ambos grupos de animales.

Comparando los animales *h-COX-2 Tg* con sus hermanos de camada *Wt*, el daño celular y tisular se atenúa tras la IRI. Entre las distintas vías modificadas, la cascada inflamatoria está menos activada, lo que revela una menor liberación de citoquinas pro-inflamatorias con menor reclutamiento hepático, e infiltración de neutrófilos. Las vías

de la necrosis y la apoptosis también se atenúan en los ratones *h-COX-2 Tg* tras la I/R, como la reducción del estrés del retículo endoplásmico, mientras que aumenta la autofagia. La respuesta antioxidante parece potenciarse en el contexto de la sobreexpresión de COX-2, mediante un aumento de NRF2 y sus genes diana antioxidantes. La producción total de ROS también es menor, lo que contribuye a un menor daño tisular. Curiosamente, cuando los hígados de animales *Wt* se someten a una isquemia corta antes de la isquemia de 90 minutos, denominada pre-condicionamiento (PC), la COX-2 endógena se induce a niveles más altos que sin PC, y estos hígados muestran menos daño, una inflamación atenuada, y una respuesta antioxidante mejorada. Los resultados del PC validan los obtenidos con el modelo de sobreexpresión y arrojan luz sobre porqué el PC es beneficioso cuando se requiere una resección hepática o un trasplante. Además, se ha demostrado que el papel de la COX-2 en esta protección observada es específico, ya que su inhibición con DFU, un inhibidor específico de la COX-2, revierte los efectos observados e iguala el daño causado a los animales *Wt*. Las mitocondrias son actores centrales en la fisiopatología de la IRI; por un lado, contribuyen al daño celular modulando la generación de ROS, pero por otro, desempeñan un papel esencial en la respuesta antioxidante a través de enzimas antioxidantes específicas. En este sentido, la función mitocondrial está preservada en los hígados que sobreexpresan COX-2, como puede demostrarse por un potencial de membrana mitocondrial conservado y una tasa respiratoria preservada asociada a las vías de suministro de electrones del Complejo I. Además, las mitocondrias derivadas de *h-COX-2 Tg* muestran una tendencia a estabilizar los supercomplejos compuestos de Complejo I, lo que también puede contribuir a la conservación del potencial de membrana y la respiración. El mantenimiento de un potencial de membrana mitocondrial adecuado y de las tasas respiratorias, en comparación con las mitocondrias *Wt*, puede explicarse por una estabilización de las crestas mitocondriales. Las crestas mitocondriales, invaginaciones de la membrana mitocondrial interna (IMM, del inglés *inner mitochondrial membrane*), se mantienen mediante interacciones de varias isoformas de OPA1, una proteína de la IMM implicada también en la fusión mitocondrial. Su procesamiento está mediado por proteasas, como OMA1, que actúa bajo determinados estímulos. En ratones *h-COX-2 Tg* hay un menor procesamiento de OPA1, que se correlaciona con una actividad atenuada de OMA1, mostrando una estabilización de las crestas en el contexto de la sobreexpresión de COX-2 tras I/R. Por otro lado, y como validación del estudio en ratones, se realizó un estudio retrospectivo

en pacientes que habían sido sometidos a un trasplante hepático. En esta parte del estudio, se analizaron los niveles de PGE₂ y se correlacionaron con las funciones hepáticas tras el trasplante. Este análisis muestra que la presencia de PGE₂ en el plasma de los pacientes receptores se correlaciona con un mejor pronóstico, mientras que unos niveles más bajos de PGE₂ se asocian con una disfunción precoz del injerto.

Todos estos resultados presentan a la COX-2 como un nuevo actor en la protección del hígado tras I/R, mostrando un papel antiinflamatorio y antioxidante, así como reduciendo el daño mitocondrial, el estrés celular y la muerte celular. Además, se demuestra cómo las prostaglandinas derivadas de la COX-2 en condiciones fisiológicas pueden desempeñar un papel protector en casos de trasplante hepático.